



⑮ **BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 35 071 A 1**

⑤ Int. Cl.⁷:
G 01 N 35/02

⑲ Aktenzeichen: 198 35 071.6
⑳ Anmeldetag: 4. 8. 1998
㉑ Offenlegungstag: 10. 2. 2000

DE 198 35 071 A 1

⑦① Anmelder:
Carl Zeiss Jena GmbH, 07745 Jena, DE

⑦② Erfinder:
Gluch, Martin, Dr., 07743 Jena, DE; Ameling,
Richard, Dipl.-Ing., 73434 Aalen, DE; Enderle, Thilo,
Dr., 79618 Rheinfelden, DE; Fetting, Christof, Dr.,
Blauen, CH; Tschirky, Hansjörg, Ettingen, CH

⑥⑥ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
zu ziehende Druckschriften:

DE	25 01 054 B2
DE	43 10 169 A1
DE	41 03 059 A1
DE	38 41 961 A1
US	56 23 415
US	56 14 415
US	54 92 831
US	50 87 423
EP	08 56 736 A2
EP	01 95 088 A1
WO	98 26 295 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑥⑧ Transportsystem zum Handling von Mikrotiterplatten

DE 198 35 071 A 1

Beschreibung

Stand der Technik:

Literatur

- 1: Accelerating Drug Discovery Process with Automation and Robotics in High Throughput Screening Editor: John P. Delvin, 1997 Marcel Dekker, Inc ISBN 0-8247-0067-8
- 2: Beispiele finden sich in Laboratory Automation News Editor Robin A. Felder Health Sciences Center Charlottesville VA 22908
- 3: Microplate Standardization Report 3 in Journal of Biomolecular Screening Vol 1 N4, 1996
- 4: Spektrum der Wissenschaft Spezial Nr. 6: Pharmaforschung 1997 Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH, Heidelberg, ISSN 0943-7096 ...
- 5: Industrieroboter E. J. Kreuzer, J., B., Lugtenburg, H., G., Meißner, A. Truckenbrodt 1994 Springer Verlag ISBN 3-540-54630-8

Begriffe

HTS High Throughput Screening

MTP Mikrotiterplatte

SPS Speicherprogrammierbare Steuerung

Die Analyse von einer Vielzahl von Proben ist eine Aufgabenstellung, die sich sowohl in der pharmazeutischen Wirkstoffentwicklung als auch in der medizinischen Diagnostik findet:

In der pharmazeutischen Wirkstoffentwicklung ist die Entwicklung eines neuen Wirkstoffe ein Prozeß der sich über mehrere Jahre erstreckt und Kosten in Größenordnungen von mehreren hundert Millionen DM verursacht. Ausgangspunkt ist eine Zielstruktur (Target) für die ein geeigneter pharmakogener Stoff gesucht wird. [4]. Mit Hilfe einer geeigneten biochemischen Nachweisreaktion (Assay) lassen sich Reaktionen zwischen Targets und geeigneten Bindungspartnern quantitativ nachweisen. In der Pharmazeutischen Industrie existieren derzeit Bibliotheken von Wirkstoffen mit einem Umfang von 300 000 bis zu 1 000 000 verschiedenen Reinsubstanzen. Mit jedem neuen Target stellt sich die Aufgabe aus dieser Substanzmenge mittels eines geeigneten Assays Bindungspartner zu identifizieren. Man bezeichnet diesen Prozeß als High Throughput Screening (abgekürzt HTS = "Suchen mit großem Probendurchsatz"). Das Ergebnis eines solchen Screenings ist eine kleine Anzahl von Substanzen (typischerweise 0,5%–1% der Gesamtzahl) die eine positive Reaktion im Assay zeigen. Diese Leitstrukturen stellen die Grundlage für die weitere Entwicklung eines Medikaments dar.

In der medizinischen Diagnostik ergeben sich die gleichen Aufgabenstellungen, der Analyse von vielen Einzelproben. (hier meist Patientenproben aus Blut, Urin, etc.) mit einer standardisierten Nachweisreaktion zum Nachweis von Infektionen, Erkrankungen, genetischen Dispositionen. Ein Beispiel ist das Screenen von Spenderblut in Blutbanken nach Infektionen. Oder Routineuntersuchungen bei Risikogruppen auf Infektionen oder andere Krankheitssymptome.

Eine Weiteres Anwendungsfeld im biochemischen Umfeld ist die kombinatorische Chemie. Hier werden durch Parallelsynthese mehrere hundert verschieden Einzelsubstanzen gleichzeitig erzeugt, die im folgenden mittels geeigneter Techniken wieder bearbeitet und charakterisiert werden müssen.

Zur parallelen Bearbeitung großen Probenmengen hat sich ein Probenträgerstandard entwickelt: Mikrotiterplatten

(abgekürzt MTP) mit standardisierten Abmessungen und Lochraster für 96, 384, 1536. [3] Diese Anordnung erlaubt die parallele Bearbeitung von vielen Einzelproben. Die Analyse solcher MTP erfolgt durch automatisierte Abarbeitung eines Assayprotokolls. Ein solches Protokoll umfaßt eine festgelegte Anzahl von Bearbeitungsschritten; dazu gehört z. B das Lösen und Mischen von Substanzen, inkubieren für eine festgesetzte Zeit sowie die Bestimmung von Meßwerten mittels eines geeigneten Analysengerätes. Zu diesem Zweck gibt es automatisierte Probenverarbeitungsgeräte [2] zum Lösen von Feststoffen, pipettieren, mischen, inkubieren, messen.

Typische HTS Systeme sind Laborgeräte die durch ein zentrales Handlingsystem miteinander verbunden sind. Ein solches Handlingsystem besteht aus einem Roboter mit Greifer für MTP, der entweder in einer Kreisbewegung (Dreh-Schub Arm) oder auf einer linearen Schiene die Platten zwischen den einzelnen Stationen bewegt.

Die Abarbeitung der einzelnen Arbeitsschritte wird über eine Softwaresteuerung geregelt (Scheduler) Diese optimiert die Abfolge der Prozeßschritte hinsichtlich bestehender Randbedingungen (z. B. Platte darf nur an eine freie Position übergeben werden, feste zeitliche Intervalle zwischen aufeinanderfolgenden Prozeßschritten müssen eingehalten werden, etc.).

Die Leistungsfähigkeit solcher Handlingsysteme wird im Betrieb durch die folgenden Randbedingungen eingeschränkt:

Der Roboterarm steht in den meisten Fällen nicht an der Position an der die nächste Operation erfolgt. Die Zeit um dorthin zu gelangen hängt von der letzten ausgeführten Operation ab (ist somit nicht immer gleich).

Ein Roboterarm braucht 3 Bewegungen um 2 Platten je eine Position weiter zu befördern.

Die oben genannten Beschränkungen müssen von der Software, die das Gesamtsystem steuert berücksichtigt werden.

Die lineare Verknüpfung der Prozeßschritte führt dazu, daß die Randbedingung fester Zeitintervalle zwischen zwei Bearbeitungsschritten für alle Bearbeitungsschritte eingehalten werden muß.

Beim Rundtakt ist die Zahl und Größe der am Prozeß beteiligten Komponenten begrenzt, dafür sind die Wege kurz.

Bei der linearen Schiene werden mit zunehmender Länge die Totzeiten in denen der Arm zur nächsten Position sich bewegt immer größer.

Die Steuerung eines solchen Systems wird von einem sogenannten Scheduler koordiniert. Darunter versteht man ein Programm, das die zeitliche Abfolge der Steuerungskommandos berechnet das jede MTP die gleich Behandlung (Prozeßschritte und Prozeßdauer erfährt). Es gibt zwei unterschiedliche Arten von Schemen:

Statische Scheduler. Hier wird die zeitliche Abfolge der Steuerungskommandos vor Prozeßbeginn berechnet und im Lauf nicht mehr modifiziert.

Dynamische Scheduler. Hier wird die zeitliche Abfolge der Steuerungskommandos vor Prozeßbeginn berechnet. Im Lauf wird bei Abweichungen eine Neuberechnung vorgenommen. Dynamische Scheduler können auf Veränderungen die sich durch kleine Störungen oder Schwankungen im Prozeß ergeben reagieren, mitunter auf Kosten der Gleichbehandlung aller Platten. Beide Typen von Schemen haben z. T. sehr komplexe Optimierungen zu vollziehen, die sich aus den oben genannten Randbedingungen der Transportsysteme, wie sie derzeit in HTS eingesetzt werden ergeben.

Aufgabe der Erfindung ist ein Transportsystem, das die

genannten Einschränkungen überwindet.

Der lineare Prozessablauf wird in Teilschritte untergliedert. Diese Teilschritte werden in autonomen Bearbeitungseinheiten (Modulen), die jeweils ein eigenständiges Transportsystem besitzen, bearbeitet.

Alle Bearbeitungsschritte eines Prozesses die eine festen zeitliche Beziehung zwischen aufeinanderfolgenden Bearbeitungsschritten erfordern (z. B. die genaue Einhaltung einer Inkubationszeit) sind auf einen solchen Modul zusammengefaßt.

Der Transport zwischen Bearbeitungsplätzen innerhalb eines Modules erfolgt synchron die Reihenfolge der Bearbeitungen (die sich durch den jeweiligen Prozessablauf ergibt) ist frei definierbar.

Jedes Modul besitzt einen Puffer für eingehende und ausgehende Platten. Alle Module haben eine gemeinsame standardisierte Schnittstelle.

Der Transport zwischen den Modulen erfolgt asynchron mit einem separaten Transportsystem zwischen Ausgangs- und Eingangspuffer aufeinanderfolgender Module. Die Reihenfolge des Plattentransportes ist frei definierbar.

Die Steuerung eines Moduls erfolgt über eine lokalen Steuereinheit.

Die einzelnen Modul Steuerungen sind über ein standardisiertes Netzwerk (Ethernet, Feldbus, oder künftige Weiterentwicklungen) mit entsprechendem Protokoll (TCP/IP, CAN, oder künftige Weiterentwicklungen) miteinander verbunden. Ein Leitreechner übernimmt die Kontrolle über das gesamte System (Client Server Architektur).

Das Transportsystem zwischen den Modulen könnte realisiert werden mit:

einem linearen Transportsystem mit Greifer

einem Dreh-Schub Arm mit Greifer und entsprechender Anordnung der Module [5]

einem Förderband mit Stoppern und Ein- Ausschleusungen für die Platten an den Modulen.

Das Transportsystem innerhalb der Module könnte realisiert werden mit:

einem Förderband mit Transfersystemen, zu den einzelnen Komponenten auf dem Modul. Für den Transfer ergeben sich folgende Möglichkeiten:

- mittels Greifern als "pick and place" Operationen,
- durch Stopper auf dem Band in Verbindung mit Ein- und Ausschleibern zwischen Transportsystem und den einzelnen Komponenten.

Drehtellern mit je 2 Aufnahmen für MTPs zwischen denen die Platten bewegt werden.

Einem Knickarmroboter [5], in dessen Reichweite die einzelnen Komponenten sich befinden.

Die Steuerung eines Moduls könnte realisiert werden mit: Speicherprogrammierbarer Steuerung (SPS) wie z. B. Siemens S5 Industrie PC mit Steckplätzen Mikrocontroller mit Peripheriebausteinen (PLC = Programmable Logic Controller).

Die Steuerung des Gesamtsystems könnte realisiert werden mit:

Speicherprogrammierbarer Steuerung (SPS) wie z. B. Siemens S5 Industrie PC mit Steckplätzen.

Ein Ausführungsbeispiel für die Steuerung wäre die Anordnung von Modulsteuerungen und dem Leitreechner in einer Client Server Architektur. Die Steuerungseinheiten bestehen aus PC-Computern, die untereinander durch Ethernet verbunden sind. Als Betriebssystem wird z. B. Windows NT verwendet, die Kommunikation via Ethernet wird mittels TCP/IP realisiert.

Dies ist in Fig. 1 dargestellt.

Jedes Modul M weist einen Lokalrechner PC auf, wobei alle Lokalrechner der Module dieselbe Schnittstelle aufweisen und über diese mit dem Leitreechner LR verbunden sind. Die innerhalb des Moduls verschiedene Hardware wird über den Lokalrechner PC gesteuert, wobei der Leitsteuerrechner LR über die einheitlichen Schnittstellen Zugriff auf die jeweils im Modul betriebene Hardware hat und diese über eine Ansteuereinheit AE ansteuert.

Vorteile der oben genannten Realisierung

Die zeitkritischen Prozessschritte sind in Module gekapselt, die über Puffer Platten empfangen und weitergeben. Die Puffer erlauben es daß bei der Steuerung des Plattenflusses nicht alle Prozessschritte synchronisiert werden müssen, sondern nur die Prozesse die innerhalb eines Moduls stattfinden. Die Module sind autonome Funktionseinheiten, die Teilschritte eines Prozesses bearbeiten können. Sie können alleine ohne das Gesamtsystem mit einer geeigneten Steuerung betrieben werden. Im Alleinbetrieb erfolgt die Zu- und Abführung der Platten entweder über die Pufferplätze, oder mit zusätzlichen Plattenspeichern (Stackern), die mehrere MTPs aufnehmen und abgeben können.

Die Module haben eine geringere Komplexität als das gesamte System. Das erleichtert die Wartung und Integration von neuer Hardware und auch das Austesten von neuen Prozessen. Wenn das Modul funktioniert, so ist die Einbindung ins Gesamtsystem aufgrund der standardisierten Schnittstelle gewährleistet.

Das gesamte System ist skalierbar. Module können hinzugefügt oder weggenommen werden. Ein Bandsystem als zentraler Transport läßt sich weiter verlängern.

Die Leistungsfähigkeit läßt sich durch parallelisieren von Modulen erhöhen.

In Fig. 2 ist das Prinzip des synchronen/asynchronen Plattentransportes dargestellt.

Dargestellt sind zwei Module M1, M2 mit jeweils mehreren Laborgeräten C1, C2, C3, beispielsweise die für das Handling mit Proben in Mikrotiterplatten erforderlichen Pipettierer, Reader und Inkubatoren.

An Übergabestellen E1 für die Zufuhr der Mikrotiterplatten in ein Modul M1 oder M2 sowie E2 zur Ausfuhr der Mikrotiterplatten aus den Modulen erfolgt der Austausch der Module mit einem zentralen Transportsystem (Förderband) TS, das den Transport zwischen den einzelnen Modulen, aber auch zwischen Eingabespeichereinheiten für die auszuweisenden Mikrotiterplatten und Endspeichereinheiten für ausgelesenen Mikrotiterplatten übernimmt.

Die Übergabe an den Einheiten E1, E2 kann beispielsweise über Schiebeeinheiten unter Anheben und Ansenken der Mikrotiterplatten oder über Greifer erfolgen.

Fig. 3 stellt das erfindungsgemäße Gesamtsystem dar, bestehend aus dem zentralen Transportsystem TS und Ein- und Ausfuhrpuffern EAP zur Übernahme oder Übergabe von Mikrotiterplatten an/ vom Transportsystem TS.

Dies ist in Fig. 4 detailliert dargestellt.

Hier übernimmt ein Drehteller mit seinen 2 Plattenpositionen die Funktion des Ein- und Ausgabepuffers. Über eine Stopp und Schubvorrichtung (SSV) wird eine Mikrotiterplatte vom zentralen Transportsystem TS angehoben und auf dem Drehteller befördert.

Dieser dreht sich und in der gegenüberliegenden Stellung wird die Mikrotiterplatte von weiteren Drehtellern DT übernommen, über die auch die Zufuhr zu in den Moduleinheiten M 2, 3, 4 vorgesehenen Inkubatoren IK, Dispensern DP und Pipettierrobotern PR erfolgt.

Auf der jeweils abgewandten Seite des Drehtellers kann gleichzeitig eine bereits bearbeitete Mikrotiterplatte aufge-

laden werden, die bei der Drehung des Drehtellers dann in Richtung des Modulausgangs oder eines Staplers ZP zum Stapeln der Mikrotiterplatten transportiert werden kann.

Die Kollisionsfreiheit kann beispielsweise über einen Sensor gewährleistet werden, der erkennt, ob die jeweilige Seite des Drehtellers frei ist, so daß eine Mikrotiterplatte zum Rücktransport aufgeladen werden kann.

Eine weitere denkbare Variante wäre ein getakteter Betrieb, so daß der Drehteller immer eine Platte einführt und eine andere Platte ausführt. Bestandteil des Moduls kann auch der Reader RE zum optischen Auslesen der Mikrotiterplatten sein, hier beispielsweise dargestellt im Modul M3.

Die Auslesung mittels des Readers kann ein- oder mehrmals erfolgen, sowohl im Durchlicht oder auch im Aufsicht, wobei Absorption, Fluoreszenz, Lumineszenz, Szintillation oder andere auftretende Effekte für die Einzelproben bestimmt werden können.

Die Erfassung der Fluoreszenz ist beispielsweise in /1/, Seite 357,365 beschrieben.

In den Modulen können zusätzliche Zwischenspeicher ZP für die MTP vorgesehen sein.

Beispielsweise kann auch über das Modul M2 die Probenvorbereitung erfolgen und im Modul M3 die Auslesung über einen optischen Reader RE. In Modul 1 ist hier ein Plattenspeicher PSP vorgesehen, der über ein Transfersystem TRS und einen Drehteller DT mit dem Transportsystem TS in Verbindung steht.

Modul 5 ist zusätzlich mit Geräten bestückbar und über einen Drehteller mit TS verbunden.

Patentansprüche

1. Transportsystem zum Handling und Transport von Mikrotiterplatten, vorzugsweise für den Einsatz in High Throughput Screening, Diagnostik und/oder Kombinatorischer Chemie bestehend aus Modulen mit Mitteln zur Probenvorbereitung und/oder Probeneinfüllung und/oder optischen Auslesung und/oder Plattenspeicherung und/oder weiteren Verarbeitungs- oder Ausleseschritten, mit einem innermodularen Transportsystem zum Transport der Mikrotiterplatten zwischen den verschiedenen Mitteln sowie mindestens einem zentralen Transportsystem zum asynchronen Plattentransfer zwischen einzelnen Modulen über Ein-Ausgabepuffer.
2. Transportsystem nach Anspruch 1, wobei Ein- und Ausgabepuffer, sowie Plattentransporteinheiten in den Modulen vorgesehen sind.
3. Transportsystem nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Platten mittels Drehteller mit Schubeinheiten transportiert werden.
4. Transportsystem nach einem der Ansprüche 1-4, wobei Einzelmodule mindestens teilweise jeweils mit einzelnen Systemen innerhalb des Moduls verbundene Lokalrechner mit nach außen standardisierter Schnittstelle aufweisen, wobei mittels eines Leitrechners über diese Schnittstellen der Transport und/oder die Verarbeitung und/oder die Bestückung und/oder das optische Auslesen gesteuert wird.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

FIG. 1

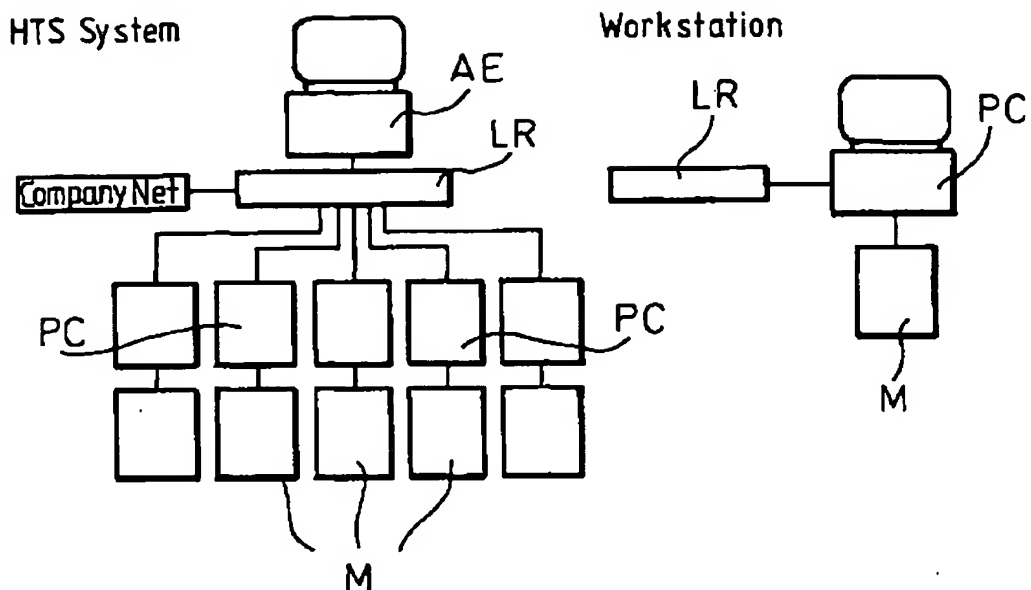


FIG. 2

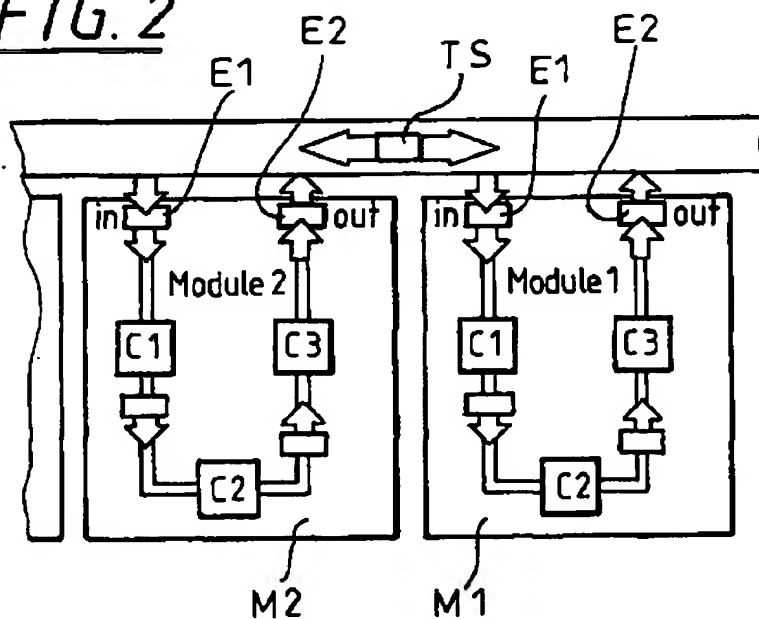


FIG. 3

